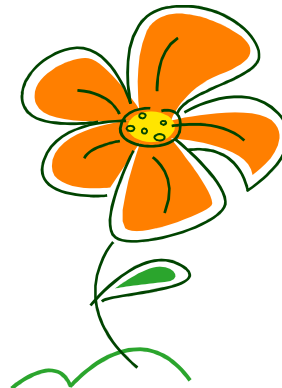


The Arabidopsis F- box protein TIR1 is an auxin receptor

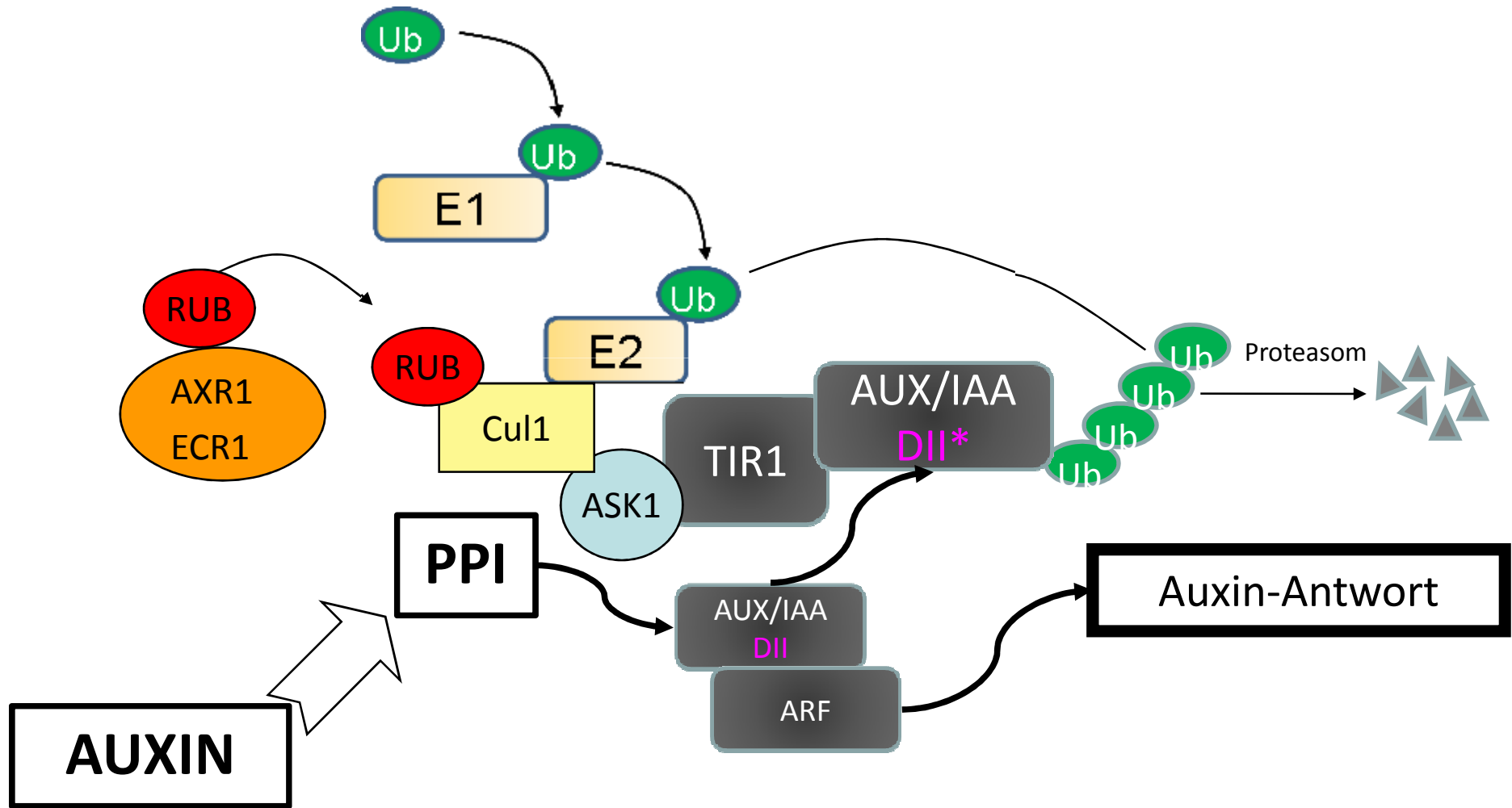
Von: Stefan Kepinski & Ottoline Leyser

März 2005

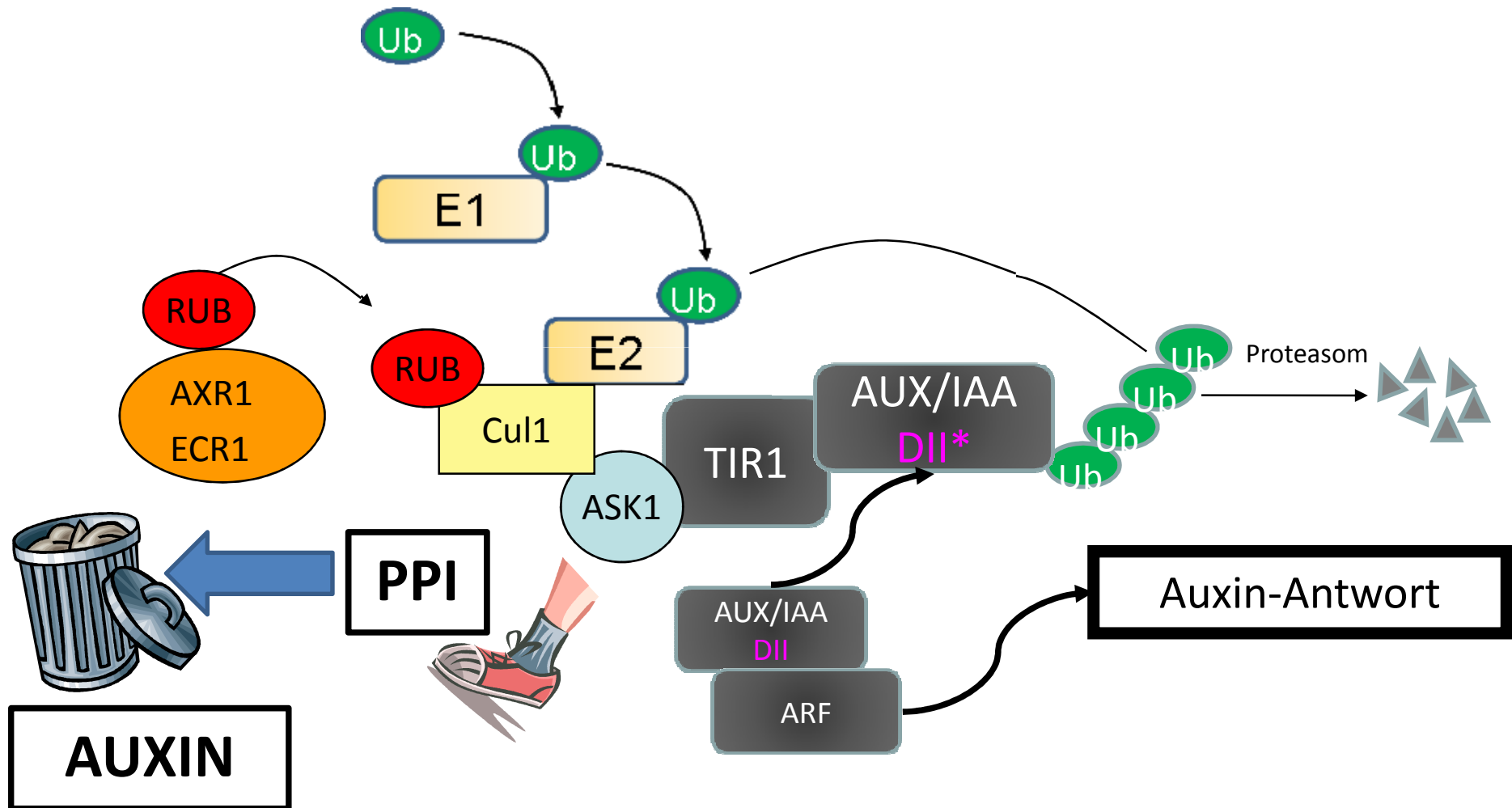


Vortrag von:
Henrike Pfefferkorn
Stefanie Lommatzsch

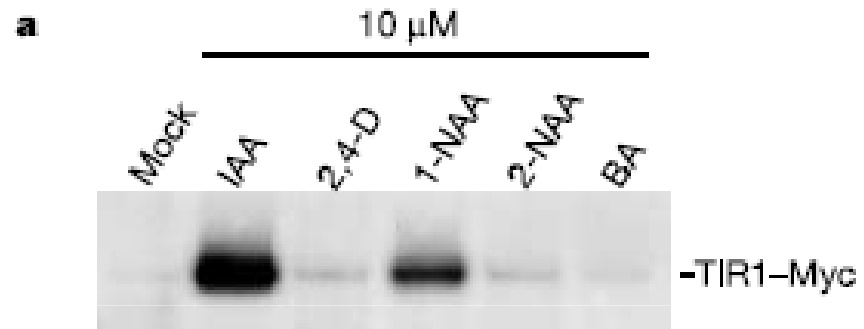
Altes Modell



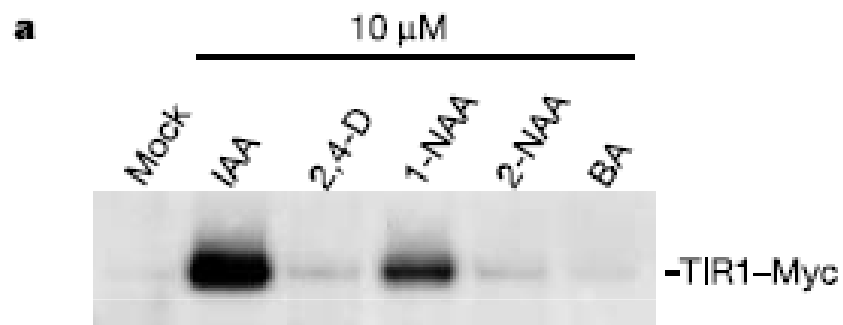
Altes Modell



Pull- Down- Assays



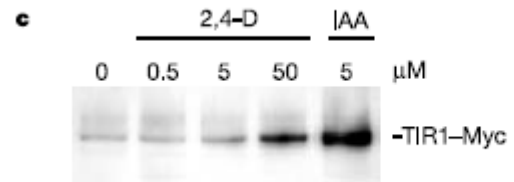
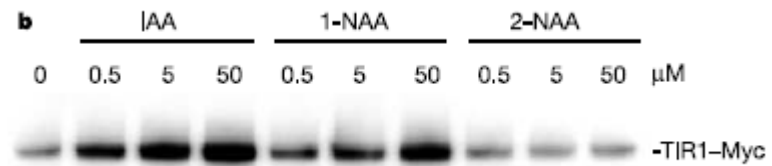
Pull- Down- Assays



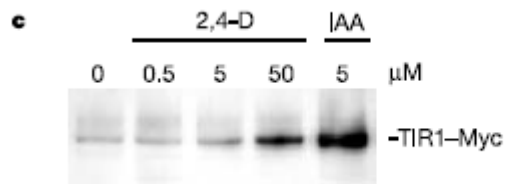
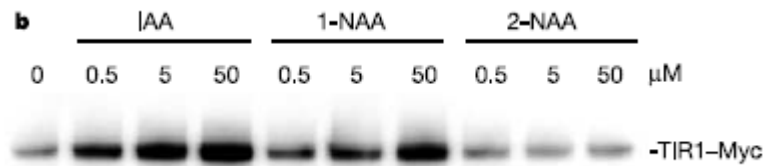
Schlussfolgerung :

- IAA fördert am besten die Interaktion zwischen TIR1 und der Domäne II des AUX/IAA Proteins
- 2- NAA und BA wirken als inaktive Auxine nicht fördernd auf die TIR1-Domäne II - Interaktion

Bei verschiedener Dosierung der Auxine



Bei verschiedener Dosierung der Auxine

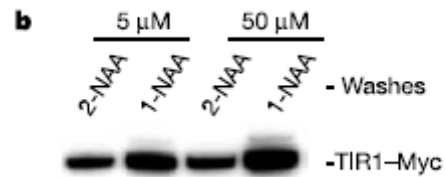
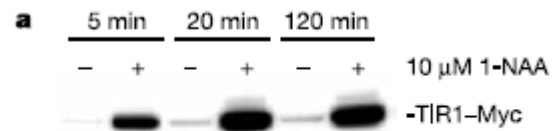


- IAA schon bei sehr geringen Dosen hoch effektiv
- Bei 2- NAA keine Wirkung sichtbar
- 1-NAA erst ab $10\mu\text{M}$ und bei 2,4- D ab $50\mu\text{M}$ klarer Effekt sichtbar



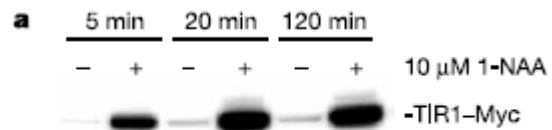
Rezeptor muss an TIR1 Komplex oder Domäne II binden

Um was für eine Art der Reaktion handelt es sich?

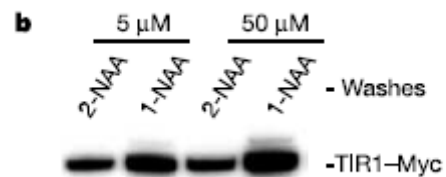


Um was für eine Art der Reaktion handelt es sich?

➤ Bereits nach 20min. tritt Sättigung ein

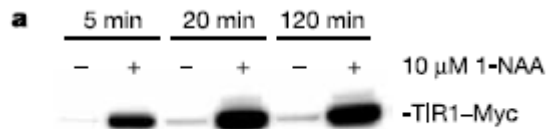


sehr schnelle Reaktion

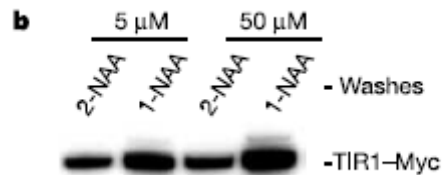


Um was für eine Art der Reaktion handelt es sich?

➤ Bereits nach 20min. tritt Sättigung ein



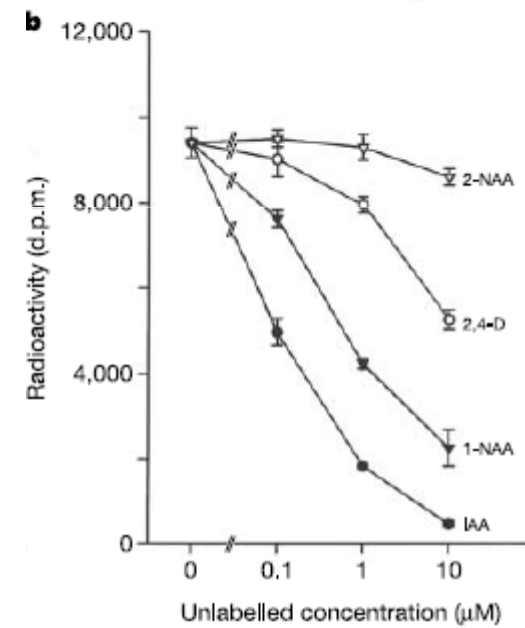
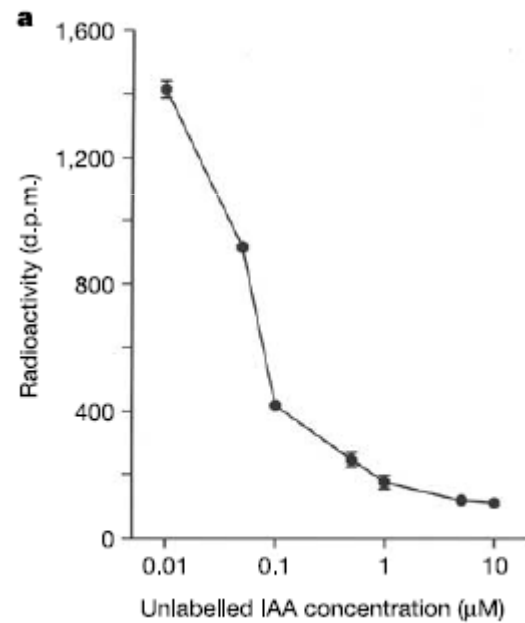
➡ sehr schnelle Reaktion



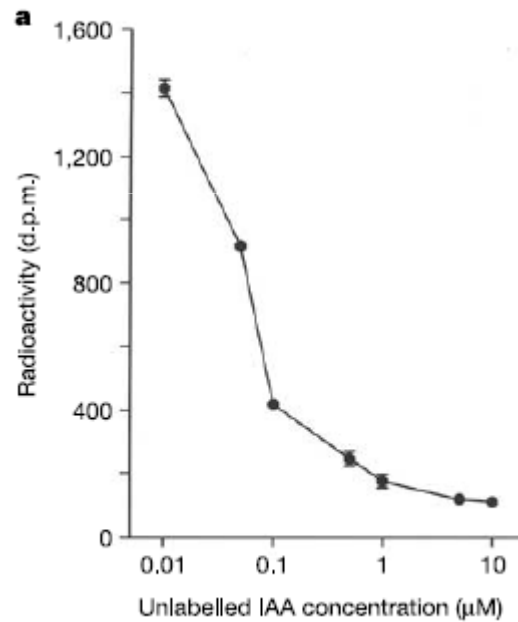
➤ Bindung benötigt permanente Auxinanwesenheit

➡ schwache Bindung

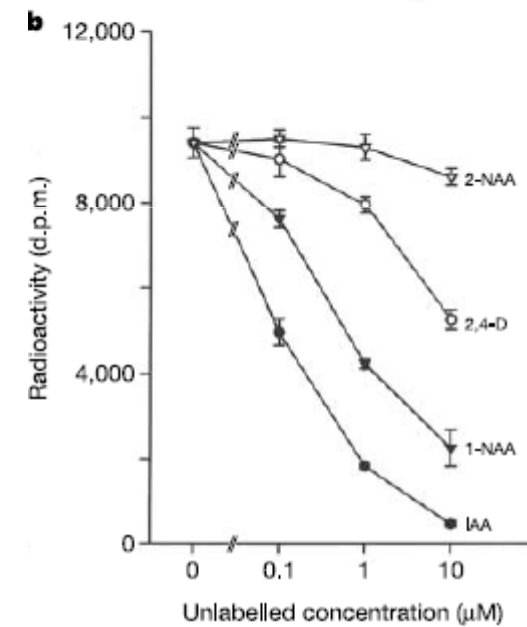
Pull-down assays mit 0,1 μM [^3H] IAA



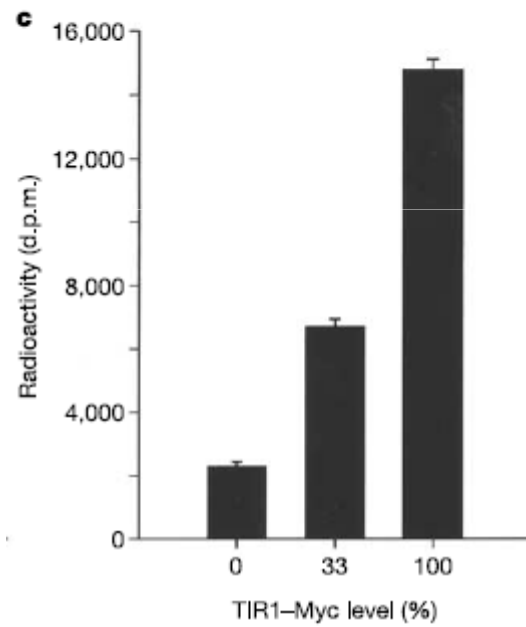
Pull-down assays mit 0,1 μM [^3H] IAA



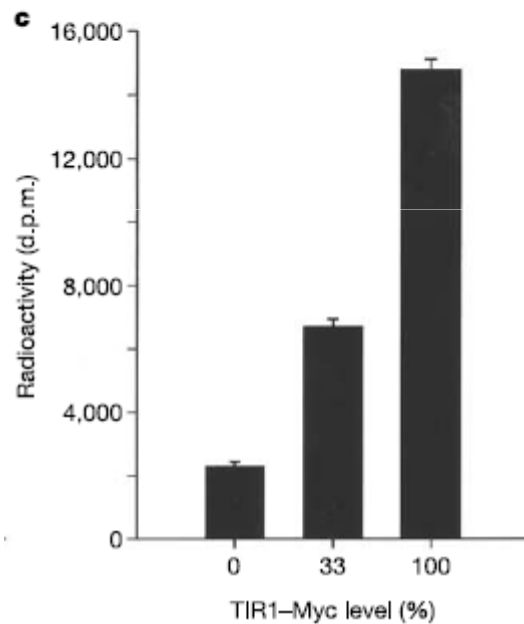
Auxin IAA bindet direkt
an den TIR1-AXR2 -
Komplex



GST- AXR2 Pull- Down- Assay



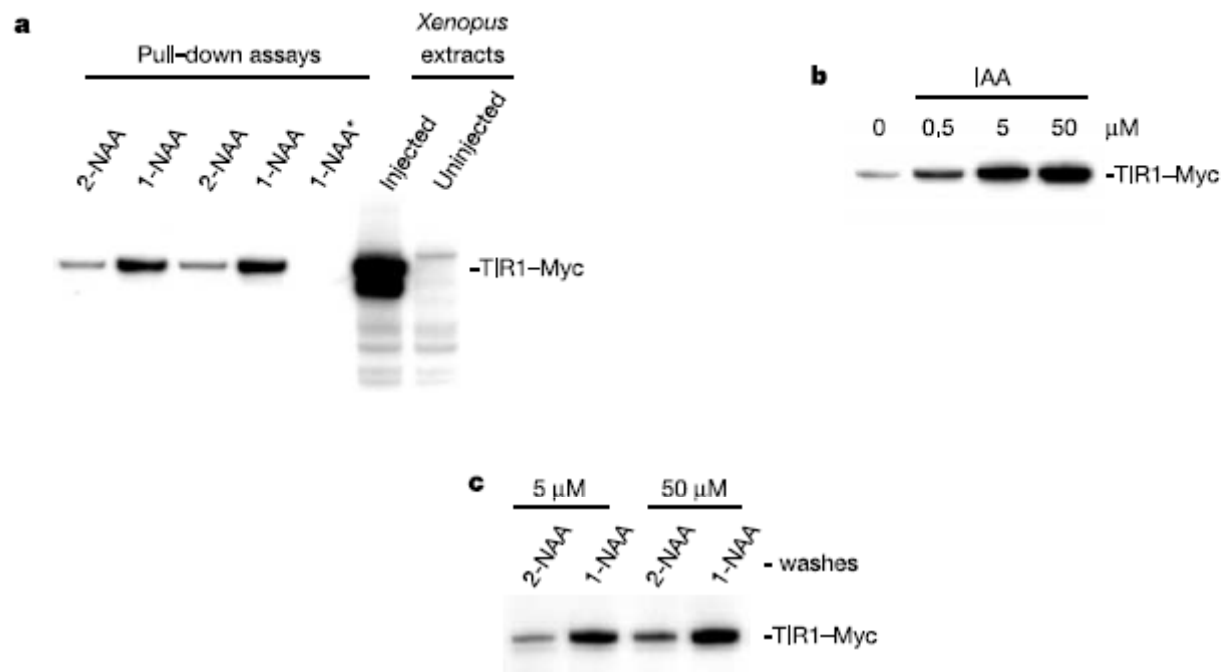
GST- AXR2 Pull- Down- Assay



➤ Je höher TIR1-Myc Dosen, desto höher ist die quantitative IAA – Bindung

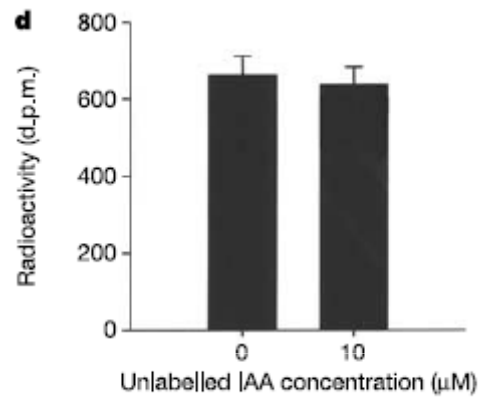


TIR1 mit hoher Wahrscheinlichkeit der Auxin-Rezeptor

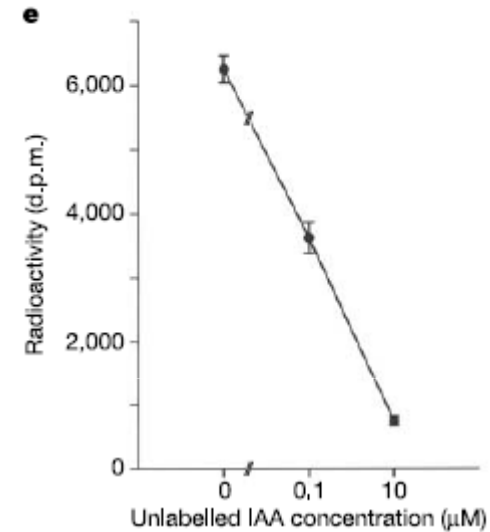


➡ TIR1 –Aux/IAA Interaktion ist im tierischer Organismus wie im pflanzlichen Auxin reguliert und Dosis abhängig

Pull-down assays mit 0,1 μM [^3H] IAA



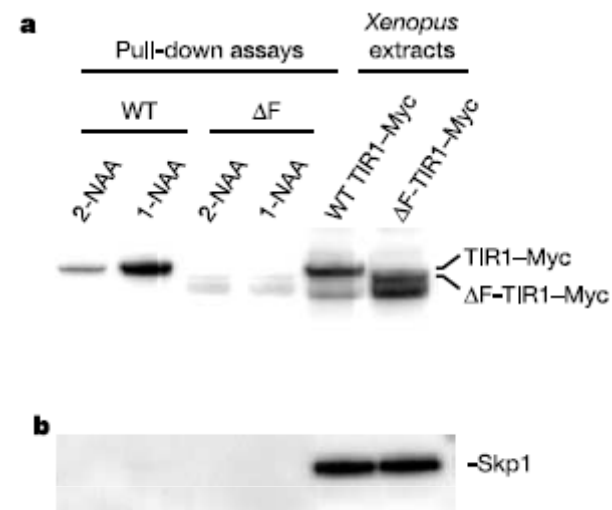
ungespritzter Embryoextrakt



gespritzter Embryoextrakt



Auxin muss an TIR1 oder an den SCF-Komplex (von Xenopus) gebunden sein
TIR1 ist wahrscheinlich der Auxinrezeptor

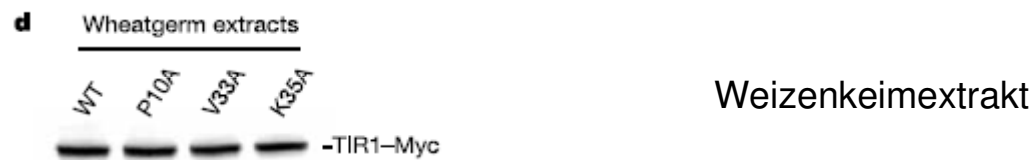
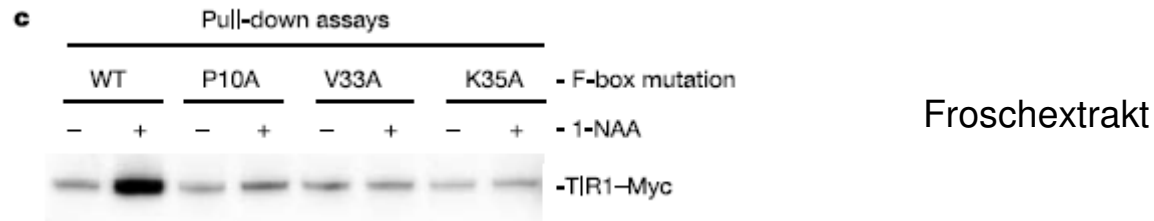


a) F-Box essentiell für TIR1 – Domäne II Interaktion

b) Skp1 ist weder im WT noch in der Mutation an TIR1 gebunden



Bindung der F-Box an den SCF Komplex über Skp1 für Interaktion nicht nötig!



- c) Mutierte F-Box Domäne verliert Funktion -> keine Homologe im tierischen Organismus
- d) trotz mutierter F-Box wird Interaktion zwischen TIR1 und Domäne II durch die funktionellen Homologen des pflanzlichen Organismus gefördert

Neues Modell

